

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-170323

⑬ Int. Cl.

A 61 K 35/78

識別記号

ABF
AEM

庁内整理番号

8413-4C
8413-4C

⑭ 公開 昭和63年(1988)7月14日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 抗アレルギー剤

⑯ 特 願 昭61-315645

⑰ 出 願 昭61(1986)12月29日

⑱ 発 明 者 久 保 道 徳 大阪府堺市晴美台2丁21番8号
⑱ 発 明 者 野 上 真 理 大阪府吹田市津雲台5丁目7番12号
⑲ 出 願 人 コスモ開発株式会社 東京都港区芝浦1丁目1番1号
⑲ 代 理 人 弁理士 八木田 茂 外2名

明 細 書

1. 発明の名称

抗アレルギー剤

2. 特許請求の範囲

有効成分として柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスを含有してなる抗アレルギー剤。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスを有効成分としてなる抗アレルギー剤に関する。

従来の技術及び問題点

近年の著しい技術革新による文明、産業の発達には社会構造や生活様式にも変化を招来し、それとともに人々が罹患する疾病にも、また従来と異なる変化が生じるようになってきている。特に、気管支喘息、鼻炎、じんま疹、薬剤アレルギー、花粉症、アトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患は現代病ともいわれ、罹患率も年々高くなりつつある。

これらアレルギー疾患の個々については、その

成因が解明されつつあるとはいえ、実際の治療の面では、主としてアレルギー反応を起こす原因を排除するかあるいは成因のひとつひとつに対応する薬物を投与する方法がとられている。

しかしながら、たとえば花粉症などのように原因となる花粉を無くしてしまふことは現実的に不可能なことであり、また薬物(抗ヒスタミン剤、脱顆粒抑制剤、 β -刺激剤など)の投与では一時的に症状が抑制されることはあつても、効果及び副作用の面で充分とはいえない現状にある。かかる現状において、各種アレルギー疾患のなかでも特に気管支喘息、アレルギー性鼻炎、皮膚炎などに対して強い抗アレルギー効果を有し、しかも長期間の投与に耐え得る安全性の高い新しい治療薬の開発が渴望されている。

問題点を解決するための手段、作用及び効果

本発明者らは、柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスがかなり強い抗アレルギー作用を有し、しかもその毒性が極めて弱いとの知見を得て本発明を完成した。

ところで各種の柑橘類が漢薬として有用であることは古くから知られており、なかでもミカンの成熟した果実の皮は陳皮、オオベニミカン(中国名: 橘橘、学名 *Citrus tangerina* Hort.)、コベニミカン(中国名: 朱橘、学名 *Citrus erythrosa* Tanaka)等の未成熟な果実をいし効果は青皮と

称されて、陳皮は胸腹脹満、食欲不振、嘔吐噎逆、痰を伴う咳嗽に、青皮は腹部から腰部にかけての疼痛、食積乳脹にそれぞれ応用されている。

また、柑橘類の中に含有されるフラボノイド配糖体が血圧降下作用を有することもすでに知られている(股元ら、日本農芸化学会誌、59、683 (1985))が、柑橘類の未成熟な果実中に抗アレルギー作用を示す成分が存在することについては、本発明者らの知る限り、何等開示されておらず、示唆もなされていない。

したがって本発明は、有効成分として柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスを含有してなる抗アレルギー剤を提供するものである。

本明細書において、柑橘類について使用する

果実からの水溶性エキスの製造例及びその抗アレルギー剤としての作用効果を例証する試験例及びその抗アレルギー剤としての製剤例について説明するが、本発明の目的を有効に達成し得る限りにおいてその他の柑橘類の未成熟果実も同様に使用し得ることは云うまでもない。

実施例

製造例

本例は本発明の有効成分である水溶性エキスの製造を例証するものである。

和歌山県下津町で栽培中の温州ミカンの着果してから2.5ヶ月の直径3.0 cmから3.5 cmの果実を採取し、この1kgをジューサーで泥状にすりつぶした。果汁中のクエン酸含量は3.92重量%、糖度は7.6重量%であった。すりつぶした泥状果汁を5Lの水の中に投入し、30分間攪拌した。ついで遠心分離(3000 rpm、20分間)して上澄液と残渣に分け、この上澄液にエタノール(99容量%)3Lを加えて30分間攪拌した後、加圧ろ過し、ろ液を液量4Lになるまで減圧濃縮し、つ

き未成熟な果実の用語は、一般に果実の着果後の生長過程において、果皮が黄変する以前であつて、しかも果肉直径が果皮直径のほぼ半分以下である未成熟段階の果実を意味するものである。たとえば温州ミカン(学名 *Citrus unshiu* Marcov.)については、着果後2ヶ月ないし3ヶ月を経過した横径が約2.5 cm以上、約4.5 cm以下で、果汁中のクエン酸含量が3.5重量%以上、糖度が9重量%以下である。果皮が黄変する以前の果肉直径が果皮直径のほぼ半分以下の未成熟な果実がこれに相当する。

本発明において有効成分として使用する柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスを、かゝる果実を通宜の大きさに切断し又は圧潰した後、水で抽出し、抽出液をエタノールで処理し、残渣物をろ過し、ろ液を濃縮しかつ凍結乾燥することによつて容易に製造することができる。柑橘類としては温州ミカンが大量かつ容易に入手できかつ本発明の意図する目的のために優れた効果を奏する点で特に好ましく、以下においては温州ミカンの未成熟

いで凍結乾燥して目的とする水溶性エキス粉末5.4gを得た。

この水溶性エキス粉末はつぎの性質を有するものであつた。

- | | |
|------------------------|---|
| (1) 灰分 | 9.21% |
| (2) 粗糖 | 0% |
| (3) 水分 | 8% |
| (4) 総分 | 17.0% |
| (5) 脂肪 | 2% |
| (6) 溶解性 | 可溶: 水
不溶: アセトン、プロパノール
一部可溶: エタノール、メタノール |
| (7) 外観 | 淡褐色粉末 |
| (8) ゲル・パーミエション クロマトグラム | |

下記条件で測定し、エチレングリコール換算分子重として第1図に示す。

装置: HOSO HLC-803 C
分析カラム: G 4000, G 3000
移動相: 水
検出器: RI

試 料: 0.1g 水性エキス/6ml 水

(9) IR スペクトル

KBr 錠剤法で測定した IR 吸収スペクトルを第 2 図に示す。

つぎに本発明の有効成分である水溶性エキスの抗アレルギー作用を試験例をあげて説明する。以下の試験例において使用した水溶性エキスは上記製造例によつて製造したものである。

試験例 1

ラット腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用

ラット腹腔から肥満細胞をとり出し、これにヒスタミン遊離物質 [コンパウンド (Compound) 48/80 あるいは卵白アルブミン液 (EWA)] と上記のごとく製造した未成熟ミカンの水溶性エキスを作用させて肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制効果を評価した。

実験条件

実験動物としてウイスター (Wistar) 系雄性

え、さらに 10 分間インキュベートした。次いで氷冷し、5°C、1200 rpm で 5 分間遠心分離した後、上清中のヒスタミン含有量を Shore らの方法 [J. Pharmacol. Exp. Ther., 127, 182 (1959)] に準じて蛍光法で測定した。

結 果

第 1 表に示すとおりである。

第 1 表 ヒスタミン遊離抑制効果

被検体	濃度 (μg/ml)	抑制率 (%)*
水溶性エキス	100	43.2
"	500	53.5

* ヒスタミン遊離率を細胞の総ヒスタミン量に対する PBS 中のヒスタミン含量の百分率として算出し、次式に従つてヒスタミン遊離抑制率を求めた。

$$\text{遊離抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{被検体存在下のヒスタミン遊離率} - \text{自発遊離率}}{\text{被検体非存在下のヒスタミン遊離率} - \text{自発遊離率}} \right) \times 100$$

ラット (体重 200 ~ 220 g) を用いた。

腹腔肥満細胞の調製は Uvnäs らの方法 [Exp. Cell. Res., 18, 512 (1959)] に準じて行なつた。ラットを断頭出血した後、10 μl/ml のヘパリンを含有するヘンクス液 10 ml を腹腔内に注入し、9-10 秒間腹部をマッサージし、次いで切開して腹腔液を採取した。採取した腹腔液を、フوسفートバッファ生理液 (PBS) に溶解したフィコールの 40 倍溶液に重層し、室温で 30 分間放置した後、1200 rpm で 10 分間遠心分離した。フィコール液層の上層部の白濁層を集め、PBS でくり返し洗滌後、PBS 中に 2.9×10^6 個細胞/ml となるように調整し、これを肥満細胞調整液とした。

遊離ヒスタミンの測定

肥満細胞調整液の 1.8 ml を 37°C、10 分間インキュベートした後、後記第 1 表に示す濃度になるように PBS に溶解した被検体の 0.1 ml 及びコンパウンド 48/80 (10 μg/ml) の 0.1 ml を加

試験例 2

ピクリクロライドによる接触性皮膚炎に対する効果

ピクリクロライド (PC) で感作したマウスの両耳に、1% PC オリーブ油液を塗布することにより誘発される接触性皮膚炎に対する上記製造した水溶性エキスの抑制効果を評価した。

実験条件

実験動物として ddY 系雄性マウス (体重 25 ~ 27 g) を用い、後記第 2 表に示す投与量になるように上記水溶性エキスの生理食塩水溶液を経口投与した。水溶性エキスは接触性皮膚炎誘発直前及び 16 時間後にそれぞれ 1 回投与した。

接触性皮膚炎の誘発は Asherson らの方法 [Immunology, 15, 405 (1968)] に準じて行なつた。すなわち、マウスの腹部に 7% ピクリクロライド (PC) のエタノール溶液 0.1 ml を塗布して感作し、7 日後に両耳に 1% PC オリーブ油液を 0.02 ml ずつ塗布してマウス接触性皮膚炎を

誘発させた。

結果

第2表に示すとおりである。

第2表 接触性皮膚炎抑制効果

被検体	投与量 (mg/kg)	マウス数	腫脹抑制率 (%)
対照群	—	10	—
水溶性エキス	100	10	50.2
	500	10	60.4

* 接触性皮膚炎誘発24時間後の耳朵の厚さ及び同誘発直前の耳朵の厚さの差を腫脹度 ($\times 10^{-3}$) として計測し、次式により腫脹抑制率を求めた。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{被検体投与群平均腫脹度}}{\text{対照群平均腫脹度}} \right) \times 100$$

試験例3

急性毒性

試験条件

価値あるものである。

本発明の抗アレルギー剤の投与量は、年齢、体重、症状、投与方法及び投与回数等により異なるが、凍結乾燥水溶性エキス粉末として通常0.5g~1.0g/日、好ましくは3~5g/日であり、1回ないし数回に分けて投与される。本発明の抗アレルギー剤は経口的に投与されるのがもつとも一般的であるが、パップ剤、浴湯剤等として経皮的にも有効に使用することができる。

本発明の抗アレルギー剤の有効成分は、通常製剤用担体と混合して調製した製剤の形で投与される。製剤の具体例としては、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、トローチ剤、軟膏剤、パップ剤、リニメント剤、ローション剤等が挙げられる。また浴湯剤としても用いられる。これらの製剤は常法に従って調製することができるが、製剤用担体としては、製剤分野において常用されかつ本発明の有効成分と反応しない物質が用いられる。

つぎに本発明の抗アレルギー剤の製剤例を示す。

特開昭63-170323(4)

ddY-3系雄性マウスを使用し、上記製造例で製造した水溶性エキスを経口投与及び腹腔内投与により投与して急性毒性を試験した。

結果の判定

投与7日後の生存率からLD₅₀値を算出した。結果を第3表に示す。

第3表 マウスに対する急性毒性

被検体	投与方法	LD ₅₀ (mg/kg)*
水溶性エキス	経口	> 5000
	腹腔	> 2000

* LD₅₀ 計算法: Behrens - Kaerber法による。

第1表ならびに第2表に示す結果から明らかなように、本発明の有効成分である柑橘類の未成熟な果実の水溶性エキスは優れた抗アレルギー作用を示し、しかもその毒性は第3表に示すように極めて低い。したがって、本発明の特徴とする水溶性エキスの安全性は極めて高く、継続的服用を要するアレルギー疾患に対する抗アレルギー剤として

製剤例1

水溶性エキス	25 g
スターチ	5.0 g
ラクトース	3.0 g
タルク	1.5 g

上記成分をよく混合し、顆粒状に形成した後、常法により100個のカプセルに充填する。

製剤例2

水溶性エキス	25 g
スターチ	5.2 g
カルシウム カルボキシメチル セルローズ	4.4 g
微細結晶性セルローズ	4.6 g
ステアリン酸マグネシウム	0.8 g

上記成分をよく混合し、常法により打錠して200mg重量の錠剤200錠を調製する。

製剤例3

水溶性エキス	25 g
無水硫酸ナトリウム	210 g
炭酸水素ナトリウム	250 g
ホウ砂	10 g

黄色202号 少々
上記成分をよく混合してパウダータイプの浴剤
500gを調製する。

製剤例4

水溶性エキス 1g
エチルアルコール 10g
グリセリン 5g
アルギン酸プロピレングリコール 0.2g
ポリオキシエチレンセチルエーテル20E.O. 1g

黄色203号 少々

精製水

全量で100g

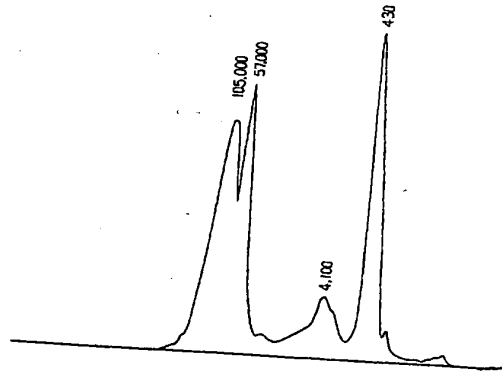
エチルアルコールにポリオキシエチレンセチルエーテルを溶解した後、精製水を加え、ついで水溶性エキスならびに色素を溶解し、得られた溶液をアルギン酸プロピレングリコールとグリセリンの均一混合液に少量ずつ加え、攪拌混合してローション剤100gを調製する。

4 図面の簡単な説明

第1図は本発明の抗アレルギー剤の有効成分として使用される温州ミカンの未成熟の果実の水溶

性エキスのゲル・パーミエーションクロマトグラムであり、第2図は同じ水溶性エキスのKBr錠法で測定した赤外吸収スペクトルである。

第1図



第2図

